



肺由来内皮微小粒子に着目した急性呼吸促迫症候群 の新たなバイオマーカーの探索

著者	武井 祐介
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第17966号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123876

学 位 論 文 要 約

博士論文題目肺由来内皮微小粒子に着目した急性呼吸促迫症候群の新たなバイオマーカーの探索.....

.....東北大学大学院医学系研究科.....専攻

.....外科病態学 講座 麻酔科学・周術期医学分野 分野

学籍番号 B4MD5094 氏名 武井 祐介.....

＜研究背景＞ 急性呼吸促迫症候群（ARDS: acute respiratory distress syndrome）過大侵襲により惹起される非心原性肺水腫であり、その本態である肺胞毛細血管関門（alveolar-capillary barrier）の崩壊には、肺毛細血管内皮細胞傷害が強く関与している。

ARDS の診断の鍵となるのは、“心不全または輸液過剰の否定”である。ARDS の代表的な基礎疾患である敗血症は、高齢の患者が多く、心血管系合併症を有しており、初期治療の急速輸液により心原性肺水腫が起りやすい状況となる。加えて、肺血管透過性亢進、肺毛細血管静水圧上昇による肺水腫が混在することもあるため、両者の鑑別に苦慮する場合もある。肺血管透過性亢進の主因である肺血管内皮傷害を評価可能なバイオマーカーは、ARDS 診断の大きな助けとなりえる。

末梢血中に循環する微小粒子（MPs: microparticles）は、細胞が傷害、活性化、またはアポトーシスの際に細胞膜から出芽により放出される直径 100nm から 1 μ m の小さな膜小胞である。microparticles は表面上の特異抗原から由来細胞が特定できるため、細胞傷害時のマーカーとして用いられてきた。血管内皮由来微小粒子（EMPs: endothelial microparticles）は、急性冠症候群、腎不全、糖尿病、COPD 敗血症など血管内皮傷害を有する病態で上昇し、その内皮傷害の程度を反映する。

ARDS の病態形成に肺毛細血管内皮傷害が関与しているため、EMPs は上昇すると推測される。しかしながら、敗血症などの基礎疾患でも EMPs が上昇するため、それが肺の内皮傷害に起因するのか、肺以外の内皮傷害に起因するものなのか判断することは難しい。

アンギオテンシン変換酵素（ACE: angiotensin converting enzyme）は、主に肺毛細血管内皮細胞で産生・分泌され、肺毛細血管内皮細胞に比較的特異度が高い。

そこで、ACE を発現している EMPs（ACE⁺ EMPs）に着目すれば、全身性の内皮傷害を有する ARDS においても、肺血管内皮傷害を評価することができるのではないかと仮説を立てた。

＜方法と結果＞ 内皮細胞の ACE⁺EMPs 放出の特性を調べるために、ヒト肺微小血管内皮細胞（HPMECs: human pulmonary microvascular endothelial cells）およびヒト皮膚血管内皮細胞（HDBECs: human dermal blood endothelial cells）に LPS 100 ng/ml、TNF- α 25 ng/ml の炎症刺激を 24 時間加え、回収した内皮細胞の細胞膜上の ACE 発現と放出された EMPs 数、ACE⁺ EMPs 数をフローサイトメトリーで測定した。HPMECs では HDBECs に比較し、細胞膜表面に ACE を強く発現していた。内皮細胞表面の ACE 発現は LPS や TNF- α などの炎症性刺激により低下した。また、HPMECs は HDBECs よりも多くの ACE⁺ EMPs を放出し、これらは炎症性刺激を加えることで増強された。HPMECs では炎症刺激を加えると、ACE⁺ EMPs/EMPs 比 が上昇したが、HDBEC では変化がなかった。

敗血症性 ARDS 患者の ACE⁺ EMPs の動態を調査するために、東北大学病院集中治療部および救命救急センターに入院した ARDS 患者 17 名と非 ARDS 患者 53 名の血清中の EMPs 数、ACE⁺ EMPs 数を測定した。EMPs 数は両群間で差はなかったが、ACE⁺ EMPs 数、ACE⁺ EMPs/EMPs 比は ARDS 群で非 ARDS 群より有意に高かった（いずれも $p < 0.001$ ）。ACE⁺ EMPs、ACE⁺ EMPs/EMPs 比は ARDS における肺血管内皮傷害を反映していることが示唆された。

急性肺傷害モデルマウスにおける ACE⁺ EMPs の動態、そして ACE⁺ EMPs と肺傷害の関連性について検討するために、C57BL/6 マウスに盲腸結紮穿孔（CLP: Cecal Ligation and Puncture）、LPS の気管内投与（LPS-IT: LPS intra-tracheal administration）を行い、成因の異なる急性肺傷害モデルマウスを作製した。急性肺傷害モデルマウスでは、各々のコントロール群と比較し、ACE⁺ EMPs 数、ACE⁺ EMPs/EMPs 比の有意な上昇を認めた（いずれも $p < 0.001$ ）。さらに肺血管透過性亢進の指標である肺乾湿重量比と ACE⁺ EMPs/EMPs 比の間に強い相関が見られた（ $r_s = 0.775$, $p < 0.001$ ）。ACE⁺ EMPs は急性肺傷害モデルマウスの肺血管内皮傷害だけでなく、肺血管透過性も反映することが示唆された。

(書式 18) 課程博士

<結論> 肺毛細血管内皮細胞からは多くの ACE⁺ EMPs が放出され、炎症刺激を加えることでさらに ACE⁺ EMPs の放出は増加し、ACE⁺ EMPs/EMPs 比が上昇する。敗血症性 ARDS 患者および急性肺傷害モデルマウスでは、ACE⁺ EMPs 数の増加、ACE⁺ EMPs/EMPs 比の上昇を認め、ACE⁺ EMPs は急性肺傷害における肺血管内皮傷害を反映する。加えて、動物実験では、ACE⁺ EMPs/EMPs と肺乾湿重量比の間に強い相関が認められ、ACE⁺ EMPs は肺血管透過性亢進の指標となりえる。ACE⁺ EMPs に着目することで、全身性の血管内皮傷害を伴う ARDS においても、肺血管内皮傷害を分別評価することが可能となり、ACE⁺ EMPs は ARDS の有用な診断マーカーとなることが示唆された。